



TITLE:

乳牛の乳房炎診断を目的とした中
赤外光およびテラヘルツ波による
体細胞数計測法の開発(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

内藤, 啓貴

CITATION:

内藤, 啓貴. 乳牛の乳房炎診断を目的とした中赤外光およびテラヘルツ波による体細胞数計測法の開発. 京都大学, 2016, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19763>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2019-07-01に公開

京都大学	博士（農学）	氏名	内藤啓貴
論文題目	乳牛の乳房炎診断を目的とした中赤外光およびテラヘルツ波による体細胞数計測法の開発		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>乳房炎とは主に細菌感染による乳房内での炎症を指し、国内で年間 800 億円の経済損失を生むことから酪農業界における最大の疾病と言われている。この乳房炎の早期発見のためには、体細胞数の計測が有効なことが知られているが、搾乳現場で日常的に使用でき、簡便、迅速で高精度な体細胞数計測法の開発が望まれている。本論文ではこの乳房炎の早期発見を目指し、中赤外ならびにテラヘルツ帯の波長の電磁波を用い、体細胞数を迅速かつ高精度に計測することを目的としている。</p> <p>第 1 章で本研究の背景、研究目的および概要を述べた後、第 2 章で生乳中の成分、乳房炎および現状で応用されている乳房炎診断法や近年の研究について詳述している。生乳では個体ごとに、また時間と共に体細胞数が変動するが、そのような条件下でも正確に計測する必要がある。現行の乳房炎の簡易検査法、潜在性乳房炎診断ではまだその精度が十分でないことより、近年、近赤外分光法を用いた検査方法の研究が行われており、将来的にミルカーやパイプライン等での検査が期待されている。しかし、近赤外分光法による検出では乳脂肪やカゼインミセルによる散乱の影響が避けられず、キャリブレーションによる補正も必要である。また、スペクトル計測のためには分光器が必要で、計測装置の大型化、高コスト化も解決すべき問題である。</p> <p>それらの問題を解決するため、より長波長の電磁波を用いることで乳中の脂肪球やカゼインミセルの散乱を低減し、細胞による散乱を効率よくとらえることを試みた。第 3 章では散乱体粒径と波長毎の散乱強度との関係を調査するため、テラヘルツ帯時間領域分光法(THz-TDS)で、体細胞に見立てた粒径 200, 300, 400 μm のガラスビーズを用いた実験を行った。その実験結果より、適切な波長を選択すれば、脂肪球やカゼインミセルの散乱を無視することが可能で、単一波長による体細胞数の計測可能性が示唆された。</p> <p>第 4 章では前章で得た粒径と散乱の関係を基に、細胞と他の乳成分との散乱強度比が大きくなる中赤外領域の波長 4.53 μm を選択し、散乱計測による体細胞数推定の可能性を検証した。効率よく散乱光を測定するために積分球を導入した散乱光測定系を構築し、モデルサンプルによる乳中体細胞数の散乱計測を行った結果、無脂肪乳中ではカゼインミセルによる散乱を抑え、細胞による散乱を選択的に計測可能であった。しかし、生乳中では脂肪球が凝集して細胞程度の大きな粒径となることがあり、細胞との識別が困難となった。さらに、この波長での細胞からの散乱は細胞核からが支配的であるとの知見を得たことから、本手法を用いて生乳中の体細胞数を測定するには、脂肪球を細胞核よりも小さく溶解させることや脱脂するといったサンプルの前処理を施し、脂肪球による散乱を低減させる必要があることが確認された。</p> <p>一方、テラヘルツ波は中赤外領域よりも長波長の電磁波であり、水分子の極性に由来する吸収が大きいとともに、細胞に含まれる生体分子や脂質等の吸収影響を受けにくい特徴を有しているため、細胞の増減に対応した吸収の変化が期待できる。第 5 章ではそのテラヘルツ波を用いて全反射減衰法 (THz-ATR 法) による体細胞数の定量実験を行った。ATR 法では、プリズム-サンプル界面で光が全反射する際にサンプル側に生じるエバネッセント波とサンプルの相互作用で生じる吸収スペクトルを測定できる。細胞の比重は乳中で最も大きく沈殿しやすいため、プリズム表面に生乳を滴下すれば細胞は沈殿する。つまり、エバネッセント波が局在するプリズム表面近傍に細胞を集中的に分布させることができるため、ATR 法で細胞を効率良く測定できると考えた。そこで、まず体細胞</p>			

胞数のみを段階的に変化させた生乳モデルサンプルを用いて計測を行った結果、高い相関 ($R^2 = 0.98$) を得ることに成功し、原理的に体細胞数を計測できることが示された。

第6章では、THz-ATR 法を用いたときの実際の乳中におけるタンパク質や脂肪などの影響を調べるため、生乳を用いた実験を行った。まず、水の吸収、温度変動、エバネッセント波の浸みだし深さ、ならびに細胞のサイズを考慮し、体細胞数計測のためのテラヘルツ帯の最適な波長を調べたところ、72 μm であった。さらに、生乳間の成分バラツキを考慮し、遠心処理した生乳の中間層と細胞を含む下層の ATR 測定の結果を変数としてこの波長を用いて生乳中の体細胞数を推定したところ、良い相関 ($R^2 = 0.64$) が得られた。また、体細胞数が 10^5 /mL 以下の生乳を健康な乳牛の閾値とした場合には、本手法によって潜在性乳房炎を 89 % の確率で識別可能であると結論付けた。最後に、第7章では実用化に向けた考察を行い、将来の展望を示すことにより総括している。

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

酪農業界で乳房炎は深刻な疾病とみなされ、早期の発見技術が求められている。現在、試薬を用いた手法、電気伝導度測定、ならびに近赤外分光法を用いた乳房炎診断技術が試みられているが、いずれもその精度や測定速度が十分ではない。本論文では、中赤外領域ならびにテラヘルツ帯の単一波長の電磁波を用いた迅速かつ高精度な乳中の体細胞数計測法を提案し、その実験結果が述べられており、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 中赤外領域の光を用いた散乱測定においては、無脂肪乳中ではカゼインミセルに影響されることなく、体細胞数を検出できた。しかし、生乳中では脂肪球による散乱の影響が大きく、無視できないことが確認された。
2. 体細胞数計測のためテラヘルツ帯の電磁波を利用した全反射減衰法を提案し、生乳中で最も比重が大きな細胞をプリズム上に沈殿させることにより、高精度な計測が可能であることを示した。
3. 体細胞数計測のためのテラヘルツ帯における最適な波長を生乳由来のモデルサンプルを用いて求めたところ、**72 μm** であることを明らかにした。さらに、その波長を利用して生乳の計測を行い、潜在性乳房炎の検査可能性を示した。

以上のように、本論文で提案された中赤外領域およびテラヘルツ帯の単一波長による計測法で生乳中の体細胞数を計測したところ、高い相関が得られ、迅速かつ高精度な乳房炎診断に応用できる可能性が示された。このことから、農業システム工学、フィールドロボティクス、生物センシング工学に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年2月8日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）